

ADJUVANTE INTRAVESIKALE THERAPIE DES OBERFLÄCHLICHEN HARNBLASENKARZINOMS MIT EINEM STANDARDISIERTEN MISTELEKTRAKT

URSULA ELSÄSSER-BEILE*, CHRISTIAN LEIBER, PHILIPP WOLF, MARTIN LUCHT,
ULRICH MENGES UND ULRICH WETTERAUER

Urologische Abteilung (UE-B, CL, PW, UW) und Zentrum für klinische Studien (ML), Universität Freiburg, Freiburg und Madaus AG (UM), Köln, Deutschland

ABSTRACT

Ziel: Die adjuvante intravesikale Immuntherapie mit Bacillus Calmette-Guerin (BCG) reduziert die Rezidivhäufigkeit beim nicht-invasiven oberflächlichen Harnblasenkarzinom signifikant. Da BCG jedoch schwere lokale und systemische Nebenwirkungen verursachen kann, wurden weitere immunaktive Substanzen erprobt, die aber alle bisher keine mit der BCG-Immuntherapie vergleichbare Wirksamkeit gezeigt haben.

Material und Methoden: In dieser klinischen Studie der Phase I/II erhielten 30 Patienten mit oberflächlichem Harnblasenkarzinom intravesikal einen auf Mistellektin eingestellten wässrigen Mistelextrakt. Etwa vier Wochen nach der transurethralen Resektion wurde jedem Patienten in wöchentlichen Intervallen 6-mal 50 ml Extrakt instilliert und zwei Stunden in der Blase belassen. Die Mistellektin-Konzentrationen reichten von 10 ng/ml bis 5000 ng/ml. Jeweils drei Patienten einer Gruppe erhielten eine Dosis, die in der folgenden Gruppe verdoppelt wurde. Das klinische Follow-up umfasste zystoskopische und zytologische Untersuchungen sowie Biopsien. Zur Bestimmung von Zytokinen und TNF-p75-Rezeptoren wurden vor der Instillation sowie 2, 6 und 24 Stunden danach Blut- und Urinproben entnommen.

Ergebnisse: Die intravesikale Mistelextrakt-Therapie wurde unabhängig von der Konzentration sehr gut vertragen. Kein Patient hatte lokale oder systemische Nebenwirkungen der WHO-Grade 1-4. Während des 12-monatigen Beobachtungszeitraums entwickelten 33 % der Patienten mit pTa G2- und pT1 G2-Tumoren ein Rezidiv. Diese Inzidenz entsprach der Häufigkeit in einer lokalen historischen Kontrollgruppe, die aus adjuvant mit BCG behandelten Patienten gleicher Stadien und Gradings bestand. Die Urinspiegel aller bestimmten Zytokine vor sowie 2, 6 und 24 Stunden nach der Instillation unterschieden sich nicht signifikant.

Schlussfolgerungen: Aus den Ergebnissen ist zu schließen, dass der auf Mistellektin eingestellte Mistelextrakt eine potentielle alternative adjuvante Therapie für das oberflächliche Harnblasenkarzinom darstellt. Das optimale intravesikale Behandlungsschema ist in weiteren Studien zu eruieren.

SCHLÜSSELWÖRTER: Harnblase, Harnblasenkarzinom, Mistelextrakt, Lektine, intravesikale Instillation

Bacillus Calmette-Guerin (BCG) hat sich als adjuvante Therapie des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms im Anschluss an die operative Resektion etabliert. In mehreren Studien konnte eine Reduktion der Tumor-Rezidivrate von etwa 40 % nachgewiesen werden.^{1,2} Die mitunter schweren Nebenwirkungen von BCG wie Zystitis, Fieber und in Einzelfällen auch Miliartuberkulose und Todesfälle relativieren jedoch den Nutzen.^{3,4} Wegen dieser Nebenwirkungen wurden unkonventionelle Therapien mit Zytokinen und anderen Immunmodulatoren erprobt, die jedoch bisher keine der BCG-Immuntherapie vergleichbare Wirksamkeit gezeigt haben.

Seit mehr als 70 Jahren werden wässrige Extrakte der europäischen Mistel (*Viscum album L.*) häufig als supportive Therapie bei Patienten mit malignen Tumoren eingesetzt.^{5,6} Die Diskrepanz zwischen der Beliebtheit von Mistelextrakten

und ihrer Klassifizierung als unkonventionelle Behandlung mit nicht nachgewiesener onkologischer Wirksamkeit ist jedoch offensichtlich. Es ist schwierig, die Wirkungen von Extraktpräparaten zuverlässig zu beurteilen, weil deren Zusammensetzung komplex ist und erheblich von den unterschiedlichen Herstellungsverfahren, der Erntezeit und der Art des Wirtsbaumes abhängt. Bei der Suche nach den biologisch aktiven Bestandteilen der Extrakte haben Mistellektine zunehmend an Beachtung gewonnen. Es wurde gezeigt, dass die Lektine eine ausgeprägte immunmodulierende Wirkung in vitro und in vivo haben. So steigern sie beispielsweise die Zytotoxizität von natürlichen Killerzellen gegenüber Modelltargets⁷ und stimulieren die Freisetzung von Zytokinen wie Interleukin-1 (IL-1), IL-6, Interferon- γ (IFN- γ), Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) und koloniestimulierenden Faktoren.⁸ Weiterhin ließen sich zytotoxische und Apoptose-induzierende Wirkungen auf zahlreiche menschliche Tumorzelllinien in vitro nachweisen.⁹ Auch in vivo wurden antitumorale Effekte beobachtet. So hemmte ein lokal applizierter Mistelextrakt mit Lektin-Konzentrationen von 30 ng/ml bis 300 ng/ml das Wachstum des Harnblasenkarzinoms MB49 bei Mäusen.¹⁰ Auf Grund dieser Ergebnisse ist zu erwarten, dass Mistelextrakte bei

Eingereicht am 29. September 2004.

*Korrespondenzanschrift: Urologische Abteilung, Universität Freiburg, Hugstetterstrasse 55, D-79106 Freiburg, Telefon +49-761-270-7182, Fax: +49-761-270-7191, E-Mail: ursula.elsaesser@uniklinik-freiburg.de

direkter Instillation in die Harnblase effektiver wirken als bei systemischer Applikation. Die vorliegende Studie wurde durchgeführt, um bei Patienten mit oberflächlichem Harnblasenkarzinom die Verträglichkeit sowie die antitumoralen und immunologischen Wirkungen eines intravesikal verabreichten Mistelektrates mit definiertem Lektiningehalt zu untersuchen.

MATERIAL UND METHODEN

Patienten. Für die Teilnahme an dieser prospektiven Studie der Phase I/II wurden 30 Patienten mit oberflächlichem Blasenkarzinom und histologisch verifizierten pTa G1- (n = 6), pTa G2- (n = 14) oder pT1 G2-Läsionen (n = 10) gemäß der Einschluss-/Ausschlusskriterien (siehe Anhang) ausgewählt. Das Karzinom war bei allen Patienten komplett transurethral reseziert worden; kein Patient hatte zuvor eine intravesikale Therapie erhalten. Zur Bestimmung des WHO Performance Scores wurden die Patienten vor der Aufnahme in die Studie klinisch untersucht. Darüber hinaus wurden sie über mögliche lokale und systemische unerwünschte Ereignisse durch den Mistelektrakt aufgeklärt. Alle aufgenommenen Patienten stimmten der Teilnahme an der Studie zu. Die Patienten waren zwischen 35 und 80 Jahre alt (Durchschnittsalter 70 Jahre); die meisten waren männlich (n = 23).

Die intravesikale Behandlung mit einer auf Mistellektin eingestellten Präparation eines wässrigen Mistelektrates (1:1,1-1,5, Madaus AG, Köln, Deutschland) wurde 2 bis 7 Wochen nach der transurethralen Resektion begonnen. Der Extrakt wurde nach einer von Vang et al. beschriebenen Bindungsanalyse auf den Mistellektiningehalt eingestellt.¹¹ Jeder Patient erhielt in wöchentlichen Intervallen 6 Instillationen mit je 50 ml Extrakt. Die Mistellektinkonzentrationen lagen zwischen 10 ng/ml und 5000 ng/ml. Jeweils drei Patienten einer Gruppe erhielten eine Dosis, die in der folgenden Gruppe verdoppelt wurde. Nach der Instillation verblieb der Extrakt zwei Stunden in der Blase.

Die ureterozystoskopische und zytologische Diagnostik von Rezidiven erfolgte bei den Kontrolluntersuchungen 3, 6, 9 und 12 Monate nach Beginn der Instillationstherapie. Verdächtige Befunde wurden bioptisch und histologisch bestätigt. Die lokale historische Kontrollgruppe umfasste 18 Patienten mit pTa G2- (n = 5) und pT1 G2- (n = 13) Harnblasentumoren. Alle Kontrollen waren transurethral reseziert worden und hatten anschließend in wöchentlichen Intervallen 6 BCG-Instillationen erhalten.

Blut- und Urinproben. Von jedem Patienten wurden vor sowie 2, 6 und 24 Stunden nach der Instillation zehn Milliliter heparinisiertes venöses Blut sowie Urinproben entnommen. Aus dem venösen Blut wurden Plasmaproben hergestellt, die bis zur Bestimmung der TNF-p75-Rezeptorspiegel bei -20 °C aufbewahrt wurden.

Die Urinproben wurden kühl gehalten und sofort verarbeitet. Nach 10-minütiger Zentrifugation mit 3000g zur Entfernung von Zellen und Zelltrümmern wurden die Proben mit Natriumhydroxid auf einen pH von 7,2 eingestellt und durch einen 0,45 µm Filter filtriert. Die Proben für die Zytokinbestimmung wurden bei -70 °C aufbewahrt und vor der Analyse bis auf Raumtemperatur aufgetaut und vorsichtig gemischt.

Zytokinbestimmungen. Wie zuvor beschrieben erfolgte die qualitative und quantitative Bestimmung von Zytokinen mithilfe von ELISA-Tests (enzyme-linked immunosorbent assay). Diese Tests basieren auf dem Sandwich-Prinzip und wurden in einem Schritt durchgeführt. Rekombinante menschliche Zytokine dienten hierbei als Standards.¹²

Der erste immobilisierte Antikörper des IL-1-α-ELISA-Tests war ein polyklonaler Anti-Human-IL-1-α-Antikörper von der Ziege. Für die Bestimmung von gebundenem IL-1-α

wurde das POD-gekoppelte Fab-Fragment eines polyklonalen Ziegen-Anti-Human-IL-1-α-Antikörpers (Testbereich: 100–1000 pg IL-1-α/ml) verwendet.

Für den IL-2 ELISA-Test wurden Mikrotiter-Platten mit zwei monoklonalen Mäuse-Anti-Human-IL-2-Antikörpern (Klon 3D5 und Klon 7B1) beschichtet; außerdem wurde ein dritter Peroxidase (POD)-gekoppelter monoklonaler Mäuse-Anti-Human-IL-2-Antikörper (Klon 13A6) für die Bestimmung von gebundenem IL-2 (Testbereich: 50–1000 pg IL-2/ml) eingesetzt.

Für den IL-10 ELISA-Test wurden Mikrotiterplatten mit dem monoklonalen Mäuse-Anti-Human-IL-10-Antikörper (Klon ilt-3) beschichtet. Die Detektion von gebundenem IL-10 (Testbereich: 50–500 pg IL-10/ml) erfolgte mithilfe eines zweiten POD-gekoppelten monoklonalen Anti-Human-IL-10-Antikörpers von der Maus (Klon ilt-9).

Für die Bestimmung von dimerischem IFN-γ wurde ein monoklonaler Mäuse-Anti-Human-IFN-γ-Antikörper (Klon 69) als Beschichtung und Detektions-Antikörper (Testbereich: 50–1000 pg IFN-γ/ml) verwendet.

Der erste immobilisierte Antikörper im TNF-α-ELISA-Test war ein monoklonaler Mäuse-Anti-Human-TNF-α-Antikörper (Klon 6b) und der zweite ein POD-gekoppelter polyklonaler Kaninchen-Anti-Human-TNF-α-Antikörper (Testbereich 20–500 pg TNF-α/ml).

Für den TNF-p75-Rezeptor-Assay wurden Mikrotiter Platten mit einem monoklonalen Mäuse-Anti-Human-TNF-p75-Rezeptor Antikörper (Klon utr-4) beschichtet. Die Detektion von gebundenem TNF-p75-Rezeptor erfolgte mithilfe des Peroxidase-gebundenen rekombinanten Human-TNF-α (Testbereich: 100–1000 pg TNF-p75-Rezeptor/ml).

TABELLE 1. Patientendaten und Therapiegruppen

Patient Nr.— Geschlecht— Alter	Tumorstadium	Mistellektin- Dosis (ng/ml)	Rezidiv
<i>Gruppe 1</i>			
1—m—77	Ta G2 (Tumorrezidiv)	10	nein
2—m—67	Ta G2	10	nein
3—m—70	Ta G1	10	nein
<i>Gruppe 2</i>			
4—m—67	Ta G1	20	nein
5—m—71	Ta G2	20	nein
6—m—41	Ta G2	20	ja
<i>Gruppe 3</i>			
7—m—74	Ta G2	40	nein
8—m—76	Ta G2	40	nein
9—m—80	Ta G1 (Tumorrezidiv)	40	nein
<i>Gruppe 4</i>			
10—m—74	Ta G2	80	nein
11—m—54	Ta G1	80	ja
12—m—71	T1 G2	80	ja
<i>Gruppe 5</i>			
13—m—65	T1 G2	160	ja
14—m—78	T1 G2	160	ja
15—w—35	Ta G2 (Tumorrezidiv)	160	ja
<i>Gruppe 6</i>			
16—w—69	Ta G1	320	nein
17—m—71	T1 G2	320	nein
18—m—66	T1 G2	320	ja
<i>Gruppe 7</i>			
19—w—70	T1 G2	640	nein
20—m—72	T1 G2	640	nein
21—m—67	Ta G1 (Tumorrezidiv)	640	nein
<i>Gruppe 8</i>			
22—w—77	T1 G2 (Tumorrezidiv)	1.280	ja
23—m—61	Ta G2	1.280	nein
24—m—74	Ta G2	1.280	nein
<i>Gruppe 9</i>			
25—w—72	T1 G2	2.500	nein
26—m—71	Ta G2	2.500	nein
27—w—39	Ta G2 (Tumorrezidiv)	2.500	nein
<i>Gruppe 10</i>			
28—m—48	Ta G2	5.000	ja
29—m—56	Ta G2	5.000	nein
30—w—60	T1 G2	5.000	nein

TABELLE 2. Rezidivrate nach adjuvanter intravesikaler Mistelextrakt-Therapie oder adjuvanter intravesikaler BCG-Therapie (lokale historische Kontrollgruppe)

Stadium/Grad	Rezidiv nach adjuvanter Mistelextrakt	Rezidiv nach adjuvanter BCG
Ta G2	3/14	2/5
T1 G2	5/10	3/13
Ta G2 + T1 G2	8/24 (33 %)	5/18 (28 %)

ERGEBNISSE

Von den 30 in die Studie aufgenommenen Patienten hatten 6 rezidivierende oder multilokuläre pTa G1-Tumore, 14 pTa G2-Tumore und 10 pT1 G2-Tumore. Die Patienten wurden auf 10 Behandlungsgruppen verteilt. Tabelle 1 zeigt die Stadien und Gradings der 30 Patienten in den 10 Gruppen.

Die Verträglichkeit des intravesikal verabreichten Mistelextraktes war unabhängig von der applizierten Konzentration gut. Bei den 30 Patienten wurden weder lokale noch systemische Nebenwirkungen der WHO-Grade 1–4 registriert.

Während der 12-monatigen Follow-up-Phase traten bei 9 der 30 Patienten Rezidive auf. Ein Zusammenhang zwischen der Mistellektinkonzentration und den Rezidiven wurde jedoch nicht festgestellt.

Patienten mit pTa G1-Tumoren haben eine bessere Prognose und erhalten daher normalerweise keine adjuvante intravesikale Therapie. Aus diesem Grund wurden die 6 Patienten mit pTa G1-Tumoren von dem Vergleich mit der lokalen historischen BCG-Kontrollgruppe ausgeschlossen, so dass nur die 24 Studienpatienten mit pTa G2- und pT1 G2-Tumoren mit den 18 Patienten, die früher BCG erhalten hatten und die gleichen Tumorstadien und Gradings aufwiesen, verglichen wurden.

Nach adjuvanter Mistellektin-Therapie wurde eine Rezidivrate von 8/24 (33 %) registriert. In der Kontrollgruppe hatten 5 von 18 Patienten mit adjuvanter BCG-Therapie (28 %) Rezidive entwickelt (Tabelle 2).

Die Zytokinspiegel im Urin lagen zwischen 0 bis 480 pg/ml IFN- γ , 0 bis 70 pg/ml IL-1- α , 0 bis 470 pg/ml IL-2, 0 bis 2100 pg/ml IL-6, 0 bis 370 pg/ml IL-10 und 0 bis 2400 pg/ml TNF- α . Bei keinem der bestimmten Zytokine wurden signifikante Unterschiede zwischen den Urinspiegeln vor sowie 2, 6 und 24 Stunden nach der Instillation registriert. Darüber hinaus gab es keinen Zusammenhang zwischen Zytokinspiegeln und der applizierten Mistelextrakt-dosis.

Unabhängig von der verabreichten Konzentration unterschieden sich die TNF-p75-Rezeptor Plasmaspiegel 2, 6 und 24 Stunden nach der Instillation des Mistelextraktes ebenfalls nicht signifikant von den Werten vor der Instillation. Die TNF-p75-Rezeptor-Plasmaspiegel lagen zwischen 300 pg/ml bis 6500 pg/ml.

DISKUSSION

Primäres Ziel der adjuvanten Therapie nach transurethraler Resektion des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms ist die Rezidivprophylaxe. Die intravesikale Chemotherapie und mehr noch der Einsatz von BCG haben sich bei der Reduktion der Rezidivrate bei Patienten mit pTa- und pT1-Tumoren als wirksam erwiesen. In den letzten 20 Jahren wurden zahlreiche Studien bei dieser Gruppe von Tumorentitäten durchgeführt und die Rezidivrate ging von 60 % bis 70 % (transurethrale Resektion allein) auf etwa 30 % (transurethrale Resektion und adjuvante BCG-Therapie) zurück. Daher etablierte sich die adjuvante intravesikale BCG-Instillation bei dieser Tumorentität als

Standardtherapie. Die mitunter schweren lokalen und systemischen Nebenwirkungen überwogen jedoch bisweilen den Nutzen, so dass nach alternativen Therapien gesucht werden muss.

In unserer Studie wurde erstmalig ein auf den Lektin Gehalt eingestellter Mistelextrakt intravesikal für die Behandlung des oberflächlichen Harnblasenkarzinoms eingesetzt. Im Gegensatz zu BCG war die Verträglichkeit dieser Behandlung ausgezeichnet; bei keinem der Patienten traten lokale oder systemische Nebenwirkungen auf, auch nicht in der höchsten Dosis von 5000 ng/ml.

Die 24 Patienten dieser Studie mit pTa G2- und pT1 G2-Tumoren und die lokale historische BCG-Kontrollgruppe zeigten eine ähnliche Rezidivrate von etwa 30 %. Somit war die Rezidivrate von Patienten, die mit Mistelextrakt behandelt wurden, mit derjenigen aus der historischen BCG-Kontrollgruppe vergleichbar.

Da es sich um eine Studie der Phase I/II handelte, wurde die Konzentration des Mistelextraktes stufenweise erhöht. Interessanterweise beobachteten wir die meisten Rezidive bei den Patienten, die mit relativ niedrigen Konzentrationen (80 ng/ml und 160 ng/ml) behandelt wurden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie entsprechen den Resultaten von zwei tierexperimentellen Untersuchungen, in denen die Behandlung nicht nur sehr gut vertragen wurde, sondern der intravesikal applizierte Mistelextrakt oder das Lektin in Dosierungen bis zu 1500 ng/ml auch antitumoral wirkte.^{10,13}

Es wurde gezeigt, dass die Immuntherapie mit BCG eine massive lokale Immunreaktion hervorruft und verschiedene Zytokine im Urin und Blasenewebe vermehrt auftreten.¹⁴ Weiterhin wurde eine systemische Induktion von Zytokinen^{15,16} bzw. TNF-p75-Rezeptor¹⁷ festgestellt. Um mögliche immunmodulatorische Effekte des intravesikal applizierten Mistelextraktes zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Studie zu unterschiedlichen Zeiten nach der Instillation ebenfalls die Zytokinspiegel im Urin und zusätzlich die TNF-p75-Rezeptor-Plasmaspiegel bestimmt. Im Gegensatz zu anderen Studien, die eine Zytokininduktion durch Mistelextrakt in vivo und in vitro beobachteten, wurden hier keine signifikanten Veränderungen festgestellt. Daraus lässt sich ableiten, dass intravesikal applizierter Mistelextrakt offenbar keine immunmodulatorische, sondern eher eine direkte zytotoxische Wirkung hat. Dies bestätigt die Resultate eines Tierexperimentes, in dem die intravesikale Instillation eines rekombinanten Mistellektins ebenfalls nicht zu einer Zytokininduktion in der Blasenwand führte.¹³

Bisher liegen keine kontrollierten klinischen Daten zur Verträglichkeit von intravesikal appliziertem Mistelextrakt und zur Rezidivrate des oberflächlichen Blasenkarzinoms vor. Die geringe Rezidivrate in der vorliegenden Studie ist ermutigend, zumal sie nicht auf einer Patientenselektion beruht: die Patientengruppe der Studie war mit der lokalen historischen BCG-Kontrollgruppe vergleichbar, die eine ähnliche Rezidivrate aufwies. Zur Optimierung der Behandlung sind weitere Studien erforderlich; diese könnten dazu beitragen, die Bedeutung von Mistelextrakten als adjuvante Behandlung für Patienten mit oberflächlichem Harnblasenkarzinom zu bestätigen.

ANHANG

Einschlusskriterien: Histologisch nachgewiesenes oberflächliches Blasenkarzinom Ta der Stufen 1–2 und T1 der Stufen 1–2 ohne Nachweis von positiven Lymphknoten oder Metastasen

Männliche und weibliche Patienten im Alter von 18–80 Jahren

Vollständige transurethrale Resektion

Vorliegende Einverständniserklärung nach Aufklärung

Ausschlusskriterien:

Carcinoma in situ
 Vorherige intravesikale Instillationsbehandlung in den
 letzten 6 Monaten
 Frühere Strahlentherapie der Harnblase
 Schrumpfblass mit einer Kapazität < 100 ml
 Akute oder chronische Harnblaseninfektion
 Allergien gegen Mistel-Präparate
 Schwangerschaft
 Gleichzeitige Teilnahme an einer anderen klinischen
 Studie

LITERATUR

1. Kurth, K. H., Bouffieux, C., Sylvester, R., van der Meijden, A. P., Oosterlinck, W. and Brausi, M.: Treatment of superficial bladder tumors: achievements and needs. The EORTC Genitourinary Group. *Eur Urol*, suppl., **37**: 1, 2000
2. Amling, C. L.: Diagnosis and management of superficial bladder cancer. *Curr Probl Cancer*, **25**: 219, 2001
3. Deresiewicz, R. L., Stone, R. M. and Aster, J. C.: Fatal disseminated mycobacterial infection following intravesical bacillus Calmette-Guerin. *J Urol*, **144**: 1331, 1990
4. Lamm, D. L., van der Meijden, A. P. M., Morales, A., Brosman, S. A., Catalona, W. J., Herr, H. W. et al: Incidence and treatment of complications of bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy in superficial bladder cancer. *J Urol*, **147**: 596, 1992
5. Ernst, E., Schmidt, K. and Steuer-Vogt, M. K.: Mistletoe for cancer? A systematic review of randomised clinical trials. *Int J Cancer*, **107**: 262, 2003
6. Kienle, G. S., Berrino, F., Bussing, A., Portalupi, E., Rosenzweig, S. and Kiene, H.: Mistletoe in cancer—a systematic review on controlled clinical trials. *Eur J Med Res*, **8**: 109, 2003
7. Hajto, T., Hostanska, K. and Gabius, H. J.: Modulatory potency of the beta-galactoside-specific lectin from mistletoe extract (Iscador) on the host defense system in vivo in rabbits and patients. *Cancer Res*, **49**: 4803, 1989
8. Hajto, T., Hostanska, K., Frei, K., Rordorf, C. and Gabius, H. J.: Increased secretion of tumor necrosis factors alpha, interleukin 1, and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to beta-galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res*, **50**: 3322, 1990
9. Mengs, U., Gothel, D. and Leng-Peschlow, E.: Mistletoe extracts standardized to mistletoe lectins in oncology: review on current status of preclinical research. *Anticancer Res*, **22**: 1399, 2002
10. Mengs, U., Schwarz, T., Bulitta, M. and Weber, K.: Antitumoral effects of an intravesically applied aqueous mistletoe extract on urinary bladder carcinoma MB49 in mice. *Anticancer Res*, **20**: 3565, 2000
11. Vang, O., Larsen, K. P. and Bøg-Hansen, T. C.: A New Quantitative and Highly Specific Assay for Lectin-Binding Activity. Berlin: W. de Gruyter, pp. 637–644, 1986
12. Elsasser-Beile, U., von Kleist, S. and Gallati, H.: Evaluation of a test system for measuring cytokine production in human whole blood cell cultures. *J Immunol Methods*, **139**: 191, 1991
13. Elsasser-Beile, U., Ruhnau, T., Freudenberg, N., Wetterauer, U. and Mengs, U.: Antitumoral effect of recombinant mistletoe lectin on chemically induced urinary bladder carcinogenesis in a rat model. *Cancer*, **91**: 998, 2001
14. Böhle, A. and Brandau, S.: Immune mechanisms in bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for superficial bladder cancer. *J Urol*, **170**: 964, 2003
15. Magno, C., Melloni, D., Gali, A., Mucciardi, G., Nicocia, G., Morandi, B. et al: The anti-tumor activity of bacillus Calmette-Guerin in bladder cancer is associated with an increase in the circulating level of interleukin-2. *Immunol Lett*, **81**: 235, 2002
16. Taniguchi, K., Koga, S., Nishikido, M., Yamashita, S., Sakuragi, T., Kanetake, H. et al: Systemic immune response after intravesical instillation of bacille Calmette-Guerin (BCG) for superficial bladder cancer. *Clin Exp Immunol*, **115**: 131, 1999
17. Elsässer-Beile, U., Gutzeit, O., Bauer, S., Katzenwadel, A., Schultze-Seemann, W. and Wetterauer, U.: Systemic and local immunomodulatory effects of intravesical BCG therapy in patients with superficial urinary bladder carcinomas. *J Urol*, **163**: 296, 2000



LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS
 Reprinted in Spain

This is a translation of the original English version of *Adjuvant intravesical treatment of superficial bladder cancer with a standardized mistletoe extract* which appeared in *The Journal of Urology*, **174**:76–79, 2005, published by Lippincott Williams & Wilkins. Neither the American Urological Association nor Lippincott Williams & Wilkins are responsible for any errors made during translation.